



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای در رشته پزشکی

عنوان:

بررسی وضعیت متیلاسیون ژن E-cadherin در سرم بیماران مبتلا به

سرطان معده در استان اردبیل

استاد راهنما:

دکتر سعید حسینی اصل

استاد مشاور:

دکتر محمد مآذنی

نگارش:

سمیرا سلیمانی

پاییز ۱۳۸۸

شماره پایان نامه: ۰۳۰۶

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**پروردگارا**

**عطایم فرما**

**آرامشی تا بپذیریم آنچه را که نمی توانم تغییر دهم**

**شهامتی تا تغییر دهم آنچه را که می توانم**

**و بینشی تا بدانم تفاوت آن دو را**

**تقدیم به :**

**پدر و مادر عزیز و بزرگوارم که تا همیشه وامدار مهربانی ها و زحماتشان  
هستم.**

**تقدیم به :**

**برادران عزیزم فرهنگ و فرزاد که لحظه لحظه زندگیم به خاطر وجود  
مهربانشان گرم و زیباست.**

**تقدیم به :**

**دوست عزیزم، همراز و همراه و همسفر روزهای سخت دوران تحصیل**

**دکتر سهیلا احسانی پور**

**تقدیم به اساتید بزرگوارم:**

**دکتر سعید حسینی اصل**

**دکتر محمد مآذنی**

**دکتر افشان شرقی**

**و سپاس و تشکر از راهنمایی ها و زحماتشان**

## فهرست مطالب

عنوان مطالب	صفحه
چکیده.....	۱
فصل اول: طرح تحقیق	
۱-۱- مقدمه.....	۳
۱-۲- بیان مسئله .....	۴
۱-۳-تعریف واژه ها .....	۵
۱-۴- اهداف.....	۵
۱-۴-۱- هدف کلی.....	۵
۱-۴-۲- اهداف اختصاصی.....	۵
۱- ۴- ۳- هدف کاربردی .....	۶
۱- ۴- ۴- اهداف فرعی.....	۶
۱-۵- فرضیات .....	۷
فصل دوم: بررسی متون	
۲-۱ مبانی نظری.....	۹
۲-۱-۱ میزان بروز و اپید میولوژی.....	۹
۲-۱-۲ پاتولوژی.....	۹

۱۱	۲-۱-۳ اتیلوژی.....
۱۳	۲-۱-۴ مورفولوژی.....
۱۴	۲-۱-۵ تظاهرات بالینی.....
۱۶	۲-۱-۶ تشخیص.....
۱۸	۲-۱-۷ درمان.....
۱۹	۲-۲ مطالعات جهان.....
۲۲	۲-۳ مطالعات ایران.....

### فصل سوم: مواد و روشها

۲۴	۳-۱ نوع مطالعه.....
۲۴	۳-۲ جامعه آماری، حجم نمونه.....
۲۴	۳-۳ روش گردآوری اطلاعات.....
۲۴	۳-۳-۱ مواد لازم.....
۲۸	۳-۳-۲ وسایل مورد نیاز.....
۲۹	۳-۳-۳ دستگاه‌های مورد استفاده.....
۲۹	۳-۳-۴ روش کار.....
۲۹	۳-۳-۴-۱ نمونه گیری:.....
۳۰	۳-۳-۴-۲ استخراج DNA از سرم.....
۳۱	۳-۳-۴-۳ مراحل ( Bi-sulfite Treatment of DNA ).....
۳۲	۳-۳-۴-۴ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR).....

۳-۳-۴-۵ - الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز..... ۳۲

۳-۳-۵ - ملاحظات اخلاقی..... ۳۳

۳-۳-۶ - روش تجزیه و تحلیل داده ها..... ۳۳

#### فصل چهارم: نتایج

ارائه نتایج..... ۳۵

#### فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۵-۱ - بحث و نتیجه گیری..... ۴۸

۵-۲ - محدودیتها..... ۵۱

۵-۳ - پیشنهادات..... ۵۱

منابع..... ۵۲

چکیده انگلیسی..... ۵۴



## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲ فاکتورهای خطر ساز کارسینوم معده	۱۱
جدول ۲-۲ سیستم طبقه بندی برای کارسینوم معده	۱۷
جدول ۳-۱: توالی الیگونوکلوئوتیدهای مورد استفاده در بررسیهای PCR	۲۶
جدول ۳-۲: شرایط دمایی جهت تکثیر ژن	۲۶
جدول ۴-۱ ارتباط میان جنسیت و نوع آدنوکارسینوم	۳۹
جدول ۴-۲ ارتباط میان گروه سنی و نوع آدنوکارسینوم	۳۹
جدول ۴-۳ ارتباط میان محل تومور و جنسیت	۴۰
جدول ۴-۴ ارتباط میان محل تومور و نوع آدنوکارسینوم	۴۱
جدول ۴-۵ ارتباط میان جنسیت و وجود DNA آزاد	۴۲
جدول ۴-۶ ارتباط میان گروه سنی و وجود DNA آزاد	۴۲
جدول ۴-۷ ارتباط میان نوع آدنوکارسینوم و وجود DNA آزاد	۴۳
جدول ۴-۸ ارتباط میان محل تومور و وجود DNA آزاد	۴۳
جدول ۴-۹ ارتباط میان جنسیت و وضعیت متیلاسیون CDH1	۴۴
جدول ۴-۱۰ ارتباط میان گروه سنی و وضعیت متیلاسیون CDH1	۴۴
جدول ۴-۱۱ ارتباط میان نوع آدنوکارسینوم و وضعیت متیلاسیون CDH1	۴۵
جدول ۴-۱۲ ارتباط میان محل تومور و وضعیت متیلاسیون CDH1	۴۵
جدول ۵-۱ درصد متیلاسیون CDH1 در نمونه های تومورال	۵۰
جدول ۵-۲ درصد متیلاسیون CDH1 در نمونه های سرمی	۵۰

## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
شکل ۱- ۴ توزیع گروه سنی در بیماران شرکت کننده در پژوهش.....	۳۶
شکل ۲- ۴ توزیع جنسی بیماران شرکت کننده در پژوهش.....	۳۶
شکل ۳- ۴ فراوانی انواع آدنوکارسینومای معده در بیماران مبتلا.....	۳۷
شکل ۴- ۴ توزیع محل تومور در بیماران شرکت کننده در پژوهش.....	۳۷
شکل ۵- ۴ فراوانی DNA آزاد در سرم بیماران مورد مطالعه.....	۳۸
شکل ۶- ۴ فراوانی متیلاسیون پروموتور ژن CDH1 در سرمهای واجد DNA آزاد.....	۳۸
شکل ۷- ۴ نمونه های الکتروفورز شده از محصول نهایی MS-PCR ژن CDH1.....	۴۶

## فهرست علائم اختصاری

**MS-PCR:** methylation specific polymerase chain reaction

**DNA:** Deoxyribonucleic acid

**RNA:** Ribonucleic acid

## بررسی وضعیت متیلاسیون ژن E-Cadherin در سرم بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل

### چکیده:

**مقدمه و هدف:** سرطان معده، دومین علت مرگ ناشی از سرطان در دنیاست که شیوع جغرافیایی بسیار متفاوتی دارد. با وجودی که در بسیاری از کشورهای جهان، روند کاهشی در شیوع کلی مرگ و میر ناشی از سرطان معده وجود دارد، با این حال سرطان معده به عنوان یکی از عوامل کشنده اصلی در میان سرطان ها باقی مانده است. شواهد زیادی وجود دارد که سرطان معده نتیجه ی تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیک متعدد بر روی انکوژن ها، ژنهای سرکوب کننده ی تومور، ژنهای ترمیم کننده ی DNA و مولکولهای چسبندگی سلولی است.

این مطالعه، بررسی وضعیت هایپرمتیلاسیون در ژن E-cadherin به عنوان ژن سرکوب کننده ی تومور در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل با هدف دستیابی به یک فاکتور پیش آگهی جهت تشخیص زودرس تومور معده است. **مواد و روش ها:** از ۸۲ بیمار مبتلا به سرطان معده ی مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) (کلینیک ارس) که بیماری آنها از نظر پاتولوژی تأیید شده بود، نمونه خون گرفته شد. جداسازی سرم از خون توسط سانتریفیوژ انجام شد. نمونه های سرم جهت استخراج DNA و انجام روشهای مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان امام خمینی (ره) انتقال یافت. پس از استخراج DNA سرمی و مواجهه با بی سولفات، توسط روشهای PCR مختص متیلاسیون (MS-PCR)، وجود هایپرمتیلاسیون در پروموتور ژن E-cadherin بررسی شد.

**نتایج:** پس از بررسی DNA مربوط به ژن E-cadherin در سرم افراد مبتلا مشخص گردید که این DNA در ۵۹/۸٪ از آنها وجود دارد که از میان آنها ۵۳٪ هایپرمتیله بودند پس از بررسی داده ها هیچ گونه ارتباط آماری معنی داری میان وضعیت هایپرمتیلاسیون ژن E-cadherin با سایر داده ها شامل جنسیت، گروه سنی، نوع و محل تومور وجود نداشت. **نتیجه گیری:** با توجه به یافته های این آزمایش، می توان در درصدی از بیماران، پزشک معالج را در تشخیص پیش رس سرطان معده یاری نمود. البته افق های بعدی این طرح، بررسی کمی متیلاسیون در سرم می باشد تا شاید به داده هایی پر ارزشتر و یا ارتباطاتی معنی دار پی برده شود.

**واژه های کلیدی:** سرطان معده، هایپرمتیلاسیون، E-cadherin، MS-PCR، اردبیل

فصل اول :

طرح تحقیق

## ۱-۱- مقدمه

سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان در دنیاست که شیوع جغرافیایی بسیار متفاوت دارد. (۱).

به دلایل نا شناخته، میزان مرگ و میر ناشی از سرطان در ۷۵ سال گذشته به طور چشمگیری کاهش پیدا کرده است. با این حال، ۲۱۲۶۰ مورد جدید از سرطان معده در سال ۲۰۰۷ در ایالات متحده تشخیص داده شده و ۱۱۲۱۰ آمریکایی به دلیل ابتلا به سرطان معده جان خود را از دست داده اند (۲).

بر اساس مطالعات انجام شده در کشورمان، توسط وزارت بهداشت و درمان، مشخص شده است که آدنوکارسینوم معده، کشنده ترین سرطان در ایران است که تفاوت زیادی در میزان مرگ و میر در استان های مختلف وجود دارد. بر اساس این مطالعات استان اردبیل بالا ترین میزان شیوع سرطان معده را در ایران دارا می باشد (۳).

شواهد زیادی وجود دارد که سرطان معده نتیجه ی تغییرات ژنتیکی و اپی ژنیک متعدد بر روی انکوژن ها، ژنهای سرکوب کننده ی تومور، ژنهای ترمیم کننده ی DNA و مولکولهای چسبندگی سلولی است (۴).